

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicum* SOBRE *Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR: CRISTIAN ERIBERTO SANCHEZ BARRERA

ASESOR: Dr. Elva Mejía Delgado

Trujillo – Perú

2017

PRESENTACION

Yo Cristian Eriberto Sánchez Barrera egresado de la facultad de medicina, siendo requisito para optar el grado de Médico cirujano presento mi tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicum* SOBRE *Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE

Teniendo el conocimiento del *Staphylococcus aureus* meticilino resistente que es una bacteria causante de varias enfermedades que hace peligrar la vida del ser humano y para combatirla existe escasos antibióticos por eso se busca nuevas alternativas tratamientos en el campo del arte medicinal de las plantas.

En nuestro medio trujillano que es urbano y de largos años de funcionamiento de los hospitales de la ciudad de Trujillo y en diferentes partes del mundo la bacterias del genero *staphylococcus* es un problema mayor por el desarrollo de múltiples mecanismos de resistencia contra tipos de antibióticos (b- lactamicos, etc.) limitando las alternativas de tratamiento.

Según estudios anteriores se evidencia efecto antibacteriano de *Cinnamomun zeylanicum* sobre bacterias (ejemplo *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina) y hongos; no encontrándose estudios según la literatura revisada de la canela sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente por ende se decidio poner a prueba a *Cinnamomun zeylanicum* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente que es una bacteria con escasas opciones de antibioticoterapia (vancomicina) con ello nos impulsa a buscar nuevas alternativas en la utilización de los aceites esenciales como Fito terapéutica que actualmente se encuentra en constante desarrollo en diferentes partes del mundo no siendo Perú la excepción.

DEDICATORIA

A Dios, por su inmenso amor y ser mi eterno protector; por permitirme sentir este orgullo de alcanzar mis metas, pero sobre todo por ponerme en el camino personas maravillosas con quien pueda compartirlas.

A mi hermosa familia, por ser mi motivo y mi impulso a salir adelante día a día; en especial a mi padre Danilo por su confianza y apoyo en el logro de mis sueños de ayudar a nuestra población en el campo de la salud.

A mis padres, por ser mi apoyo incondicional y mi fuerza a seguir cumpliendo mis metas para ser cada día una mejor persona y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis, la Dra. Elva Mejía Delgado, quien acepto guiarme en el inicio, desarrollo y culminación de este trabajo, brindándome su apoyo incondicional, tiempo y consejos para mejorar día a día.

A la profesora Marilú Roxana Soto Vásquez, por su apoyo desde el ambiente del Laboratorio de Farmacognosia – Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

A mis maestros, de la Universidad Privada Antenor Orrego, por inculcarme el cariño y respeto por los pacientes.

A mis compañeros con quienes compartí estos años de estudio en esta nueva etapa, manteniendo la amistad por sobre todo.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Material y Métodos: Se preparó el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en tres concentraciones: 50% (500 mg/ml), 75% (750mg/ml) y 100% (1000mg/ml). Se utilizó el método de Kirby Bauer y la determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI); para evaluar la susceptibilidad bacteriana del SAMR frente al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* así mismo hubieron un grupo control, uno con vancomicina y, otro con inóculo SAMR sin ningún tratamiento; se realizaron 12 repeticiones en cada caso. determinándose los halos inhibitorios de acuerdo a la Escala de Duraffourd y el CIM mediante la usencia visual de la turbidez. La CMB se utilizó todos los tubos que no se observaron turbidez y se procedió al sembrado de 0.1ml de las soluciones en cada 12 placas con agar Mueller-Hinton; considerándose como CMB a la menor concentración en la cual no se observaron UFC.

Resultados: Se determinó que existe diferencia significativa entre susceptibilidad de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de SAMR ($P < 0.05$). SAMR es sensible a las cuatro concentraciones del aceite, al comparar los halos de inhibición según escala de Duraffourd. La CMI para SAMR fue 50% (500mg/ml). La CMB para SAMR fue 50% (500mg/ml).

Conclusiones: El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Palabras Clave: Efecto antibacteriano, *Cinnamomum zeylanicum*, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, CMI, CMB.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro antibacterial effect of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* on the growth of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

Material and Methods: The essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* was prepared in three concentrations: 50% (500 mg / ml), 75% (750mg / ml) and 100% (1000mg / ml). The Kirby Bauer method and the minimum inhibitory concentration (MIC) determination were used; To evaluate the bacterial susceptibility of MRSA to the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum*, there was also a control group, one with vancomycin and one with SAMR inoculum without any treatment; 12 replicates were made in each case. The inhibitory halos were determined according to the Duraffourd Scale and CIM by the visual usability of turbidity. The CMB used all tubes that did not observe turbidity and were seeded 0.1ml of the solutions in every 12 plates with Mueller-Hinton agar; Being considered as CMB at the lowest concentration in which no CFU was observed.

Results: It was determined that there is a significant difference between the susceptibility of the different concentrations of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* on the growth of SAMR ($P < 0.05$). SAMR is sensitive to the four oil concentrations, when comparing the inhibition halos according to Duraffourd scale. The MIC for SAMR was 50% (500mg / ml). The CMB for SAMR was 50% (500mg / ml).

Conclusions: The essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) has an antibacterial effect in vitro against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

Key words: Antibacterial effect, *Cinnamomum zeylanicum*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CMI, CMB.

INDICE

INTRODUCCIÓN	8
1.1 Marco teórico	8
1.2 Antecedentes	17
1.3 Justificación	18
1.4 Problema	19
1.5 hipótesis nula y alterna	19
1.6 objetivos :general y específico	20
MATERIAL Y METODOS	20
2.1 población de estudio	20
2.2 criterios de selección: inclusión y exclusión.....	21
2.3 muestra : unidad de análisis , muestreo y fórmula para el tamaño de la muestra	22
2.4 diseño de estudio	23
2.5 variables y Operacionalización de variables	26
2.6 procedimiento.....	30
2.7 técnica e instrumentos de recolección de datos.....	34
2.8 procesamiento y análisis estadístico	35
2.9 consideraciones éticas.....	35
RESULTADOS.....	36
DISCUSION	41
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	47
ANEXO	53

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Marco Teórico:

Desde tiempos remotos la población del mundo ha reconocido a las plantas con el fin de curar alguna dolencia. Las plantas medicinales eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose estas virtudes de generación en generación. En los últimos tiempos se han realizado investigaciones con la finalidad de dar credibilidad a lo dicho.⁽⁷⁾

Los aceites esenciales se han hecho conocidos desde su uso en la cocina, hasta su aplicación medicinal, generando el conocimiento de las propiedades que hacen particular cada esencia. Estos están constituidos por varios compuestos orgánicos, son prácticamente insolubles en agua pero solubles en alcohol y en la mayoría de los solventes orgánicos más utilizados, lo que permite hacer formulaciones farmacéuticas para su uso externo principalmente, como linimentos, esencias y productos cosméticos de agradable olor.^(8,9)

Existe una gran variedad de plantas medicinales de las cuales se ha demostrado empírica y científicamente se efectividad de naturaleza antimicrobiana diversa. Dentro de esas plantas está considerada el *Cinnamomun zeylanicum* "Canela" que ha indicado efectos sobre una serie de bacterias.⁽¹⁰⁾

Cinnamomun zeylanicum "Canela" Es un árbol que alcanza entre 3 a 10 metros de altura, ramaje recubierto de una corteza amarillosa y aromática de sabor dulce y picante, hojas persistentes, o bolongas de flores blanco amarillosas dispuestas en ramas terminales; el fruto es una baya, de color azul o negro, en su interior contiene usualmente dos semillas.⁽¹¹⁾

La canela pertenece a la familia Lauraceae, del género *Cinnamomum* que comprende aproximadamente 250 especies, el árbol es nativo de la India e Indochina, Las tres especies importantes de donde se obtiene el aceite esencial de interés son *C. zeylanicum*. *C. cassia* Blume y *C. camphora* L. En el Perú no hay plantaciones de canela todos son exportados de otros países de medio oriente.⁽¹²⁾

Durante los últimos años, los aceites esenciales han adquirido popularidad debido a que además de ser compuestos de origen natural, poseen propiedades bactericidas y fungicidas que conllevan a una gran importancia médica así como en la industria de los alimentos para la prevención de intoxicaciones ocasionadas por diversas bacterias que se encuentran en el entorno (Asbahani et al. 2015)⁽¹³⁾

El aceite de canela (0.5 - 3.5%) es de un color amarillo claro que se torna rojizo con el tiempo, es volátil, con un olor característico; dentro de sus componentes encontramos al aceite esencial en la corteza (1 a 4%), aldehído cinámico (50-75%), eugenol (10% y en sus hojas un 80%), cinamil acetato, cinamil alcohol, cinamil aldehído, cumarinas, terpenos, oxalato de calcio, almidón, goma, resinas, tanino, mucilago y azúcar.⁽¹⁴⁾

El aceite de esta especie se puede extraer de la corteza o de las hojas, lo que da lugar a diferencias en sus características de aroma, sabor y composición química principalmente. Los componentes del aceite de corteza: aldehído cinnámico (65-75%), eugenol (6-10%), ácido transcinnámico y los componentes del aceite de las hojas: aldehído cinnámico (4%), eugenol (65-90%). El aceite de hoja de *Cinnamomum zeylanicum* contiene como componente principal el eugenol, con una alta actividad antibacterial y contiene cinamaldehído, el cual contribuye con su carácter aromático y características antimicrobianas.⁽¹⁵⁾

La canela posee múltiples propiedades con efectos biológicos y de uso terapéutico, dentro de ellas las antisépticas, analgésicas, fungicidas, antivíricas, antibióticas, antimicrobiano, espasmolítico, antioxidante, astringente, tónico del sistema simpático, estrogénico; el poder

antimicrobiano es tan fuerte que algunos fabricantes de alimentos están probando envolturas que contengan canela para invasión microbiana. ^(16, 17,18)

También en comparación ante otras especies de plantas Dalirzani Z. y Col. (2011). Demostraron el efecto antimicrobiano de diez extractos de hierbas (tomillo, menta, ajo, canela, manzanilla, árbol de té, clavo, hierbabuena, salvia y romero) frente a *Streptococcus mutans* cepa estándar ATCC-1683, comparado con clorhexidina. ⁽¹⁹⁾

También posee efecto antimicótico Marca M. (2012). Demostró que *Candida albicans* presenta alta sensibilidad al aceite esencial *Cinnamomum Zeylanicum* “canela”. La (CMI) para *Candida albicans* fue de 0,01895 mg/ml y la Concentración Mínima Fungicida (CMF) fue de 0,020529166 mg/ml. ⁽²⁰⁾

En un estudio García K. (2012). Demostró que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela” presentó efecto antibacteriano in vitro en todas sus concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ⁽²¹⁾

Otro estudio en Lima Perú Alvarado V. (2014) Concluyó que los extractos hidroalcohólicos en las diluciones de 25 y 50 µg/mL presentaron actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Staphylococcus aureus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*. ⁽²²⁾

Se ha demostrado que el aceite esencial de canela posee una toxicidad asociada con una dosis superior a 3g/kg. La dosis recomendada para uso interno es de 1 a 2 gr por 2 a 3 veces al día. El *Cinnamomum zeylanicum* está contraindicada en el embarazo, lactancia, úlcera gástrica o duodenal, fiebre de origen desconocido, no se debe administrar ni aplicar tópicamente en niños menores de 6 años ni personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad a la canela. ^(23,24)

El nombre de estafilococos fue designado por Sir Alexander Ogston después de utilizar expresión griega staphyle (racimo de uvas) para describir las características de crecimiento en grupos semejantes a uvas. Los estafilococos son cocos Gram positivos que miden cerca de 1 µm de diámetro, no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa. El género *Staphylococcus* contiene más de 30 especies diferentes, y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas; no tienen otros hábitats importantes, excepto cuando están involucradas en infecciones⁽²⁵⁾

Staphylococcus aureus importante patógeno nosocomial y comunitario, es agente causal de infecciones sistémicas y localizadas entre otras bacteriemias asociadas con el catéter venoso central, neumonía por ventilación mecánica, endocarditis, osteomielitis, tracto respiratorio inferior, piel, tejidos blandos, síndrome de choque tóxico, síndrome de la piel escaldada y enfermedades transmitidas por alimentos.⁽²⁶⁾

La frecuencia relativamente alta de aislamientos en heridas quirúrgicas es equivalente en otros trabajos y se puede deber al tipo de cirugía practicada y a la ausencia del mecanismo de barrera que ofrece la piel con la consecuencia de colonización- infección de la flora bacteriana cutánea, lo cual conlleva a la colonización e infección por este patógeno que hace parte de la biota normal del cuerpo humano y aprovecha las condiciones críticas de los pacientes hospitalizados para causar infecciones severas, razón por la cual las heridas se vuelven un reservorio óptimo para el desarrollo y la proliferación de este microorganismo.⁽²⁷⁾

El *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (SASM) y resistente a meticilina (SARM) adquirido en hospital (HASARM), se ha asociado a neumonía, absceso pulmonar, bacteremia,

sepsis, endocarditis, pericarditis, meningitis, osteomielitis, artritis, infección de heridas quirúrgicas y complicaciones en los pacientes que reciben diálisis continua.⁽²⁸⁾

Asimismo, los SASM y los SARM adquiridos en comunidad (CA-SARM) son causa de aproximadamente el 90% de infecciones cutáneas, como foliculitis, ántrax, impétigo, complicaciones de la dermatitis atópica, abscesos y celulitis, pero también de enfermedades más severas como púrpura fulminante, fascitis necrotizante, miositis, piomiositis, osteomielitis, sepsis y neumonía necrosante.⁽²⁹⁾

Las infecciones debidas a SARM adquiridas en la comunidad, por lo general se presentan en pacientes previamente sanos y sin factores de riesgo, por lo que han sido consideradas como infecciones por cepas muy virulentas. Actualmente los SARM son un serio problema de salud, ya que generan problemas terapéuticos y aumentan complicaciones, morbilidad, días de estancia y gastos hospitalarios.⁽³⁰⁾

El *estafilococo* en resumen puede generar cuadros locales por acumulo de pus, diseminación y siembra de otros focos a través de sistema vascular y cuadros asociados a toxinas (sustancias enzimáticas bacterianas que actúan como venenos)⁽³¹⁾

Por tanto se describe con frecuencia procesos focales como Foliculitis, inflamación con acumulo de pus alrededor del folículo piloso; forunculosis, colección purulenta rebasa el folículo piloso y forma un saco de pus circundado por un rodete inflamatorio que suele ser muy doloroso; Abscesos, que es un saco purulento que compromete varios niveles de planos tisulares⁽³²⁾

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (sarm) son un problema de salud pública por el perfil de multiresistencia que presenta este patógeno. El Centro para el

Control y prevención de Enfermedades (cdc), en 2013, reporta que en los Estados Unidos las infecciones anuales severas por SAMR fueron cerca de 80,461 y fallecieron aproximadamente 11,285.⁽³³⁾

Macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (mlsb) son antibióticos usados comúnmente en el tratamiento de las infecciones por estafilococos y, especialmente, para el tratamiento de las infecciones de piel y tejidos blandos causadas por los sarm.⁽³⁴⁾

El fenotipo que se ha visto asociado más frecuentemente con persistencia de cepas de *S. aureus* en los hospitales a nivel mundial es el de resistencia a meticilina. La gran mayoría de los SAMR no sólo son resistentes a todos los β -lactámicos, sino también a múltiples antibióticos. Estos patrones de resistencia limitan las opciones terapéuticas contra las infecciones del SAMR; la vancomicina y la teicoplanina son las últimas alternativas terapéuticas. Sin embargo, las primeras cepas de *S. aureus* con susceptibilidad disminuida a vancomicina fueron reportadas en Japón y en EUA en los años 90: a partir de entonces han aparecido más informes en la literatura.⁽³⁵⁾

El National Nosocomial Infectious Surveillance System (NNIS) en EUA identificó en Hospitales de tercer nivel un incremento del SAMR de 4%, en 1980, a 55%, en 2001. Para algunos hospitales se ha reportado una frecuencia de resistencia de hasta 80%. En Europa, Dinamarca, Alemania y países como los escandinavos tienen una prevalencia menor a 1%, mientras que en los países del este y sureste de Europa se presentan porcentajes más elevados y que, en algunas partes, exceden 30%. Los países de Europa central tienen porcentajes de alrededor de 10%.⁽³⁶⁾

La bacteria resistente a meticilina y a vancomicina se sabe que el elemento central de la resistencia a meticilina en *S. aureus* es la adquisición del gen *mecA*, el cual es endógeno de esta bacteria y está integrado su cromosoma. El gen *mecA* codifica para una proteína de unión a penicilina (PBP) de 78KDa (PBP2A), la cual presenta baja afinidad para los antibióticos β -lactámicos. Un estudio llevado a cabo en 1996 utilizando cepas prototipo aisladas en diferentes continentes, aportó las primeras evidencias de la existencia de tres tipos de casetes cromosomales *estafilocócicos* (SCCmec I-III). Recientemente, se describió un cuarto tipo (SCCmec IV). Estudios recientes indican que los tipos II y IV se encuentran circulando en cepas del SAMR en Latinoamérica ⁽³⁷⁾

La introducción de la penicilina a principios de los años 40 como tratamiento en las infecciones. En el año 2001 se publicaron los primeros trabajos moleculares para la determinación de las clonas del SAMR en América Latina y se encontró que la Clona Brasileña multirresistente estuvo presente en 79% de los 494 SAMR estudiados. En este mismo estudio se observó la presencia de la clona M, presente solamente en los aislamientos de México; la Clona de Brasil, predominante en Argentina, Chile y Uruguay. Un estudio llevado a cabo durante un periodo de siete años, demostró la presencia de la clona del SAMR (Nueva York/Japón) circulando en aislamientos mexicanos, así como el desplazamiento durante cinco años de la clona M actual. ⁽³⁸⁾

El antibiótico vancomicina inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana. Este bloqueo se debe a su capacidad de unión con las terminaciones peptídicas del mucopéptido de la pared, impidiendo a nivel extracelular el proceso de polimerización final del peptidoglicano ⁽³⁹⁾

Entre los microorganismos sensibles a vancomicina se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, frente a los cuales es bactericida a concentraciones inferiores a 5 mg/l. Se muestra como agente bacteriostático frente a *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* (CMI>50 mg/l). Otras bacterias sensibles son

Streptococcus pyogenes, *Streptococcus viridans*, *Corynebacterium spp*, *Listeria spp*, *Neisseria spp*, *Bacillus spp*, *Actinomyces spp* y especies de anaerobios como *Clostridium difficile*, *Peptococcus spp* y *Peptostreptococcus spp*.⁽⁴⁰⁾

De hecho, durante más de 4 décadas vancomicina ha mantenido un lugar indiscutible en la antibioterapia intrahospitalaria por su actividad consistente frente a la mayoría de gérmenes Gram (+) y porque la aparición de resistencias entre los mismos era, hasta hace poco tiempo, un hecho esporádico⁽⁴¹⁾

En febrero de 2011 la IDSA (Infectious Diseases Society of America) publicó las primeras guías clínicas para el tratamiento de estas infecciones en las que se recomienda a los betalactámicos como antibióticos para el tratamiento de pacientes con infecciones severas por cepas de *S. aureus* susceptibles a meticilina (SASM). Para las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) se recomienda el glucopéptido vancomicina. Pese a saberse de este agente desde hace más de 50 años y ser uno de los antimicrobianos más utilizados en el hospital, también es mucho lo que desconocemos. El clínico constantemente se preocupa por la potencia, las concentraciones séricas, la toxicidad e incluso por la definición de resistencia de los antibióticos que prescribe^(42,43)

En el estudio de Ocampo AM establece que la diseminación de los clones de SAMR en Colombia y otros países de América Latina, donde informan la presencia del clon usa 300, generalmente asociado con SAMR en la comunidad (SCCmecIV variante ST8), pero fueron aislados en muestras de pacientes hospitalizados.⁽⁴⁴⁾

El análisis de la prueba de sensibilidad a los antibióticos en los aislamientos SARM evidenció resistencia simultánea a eritromicina, Clindamicina, ciprofloxacina y gentamicina, fenotipo compatible con cepas de origen hospitalario. Esta característica también la encontraron Olarte

et al. En un estudio realizado en hospitales de Bogotá en el año 2010, donde determinó que los aislamientos SARM eran compatibles con el clon chileno. Este clon solo se encuentra entre los aislamientos hospitalarios (SARM-ah). En este sentido, el análisis molecular del locus *agr*, en los cuatro aislamientos de sarm detectados en este estudio, evidencia que pertenecen al grupo *agr* ii, este grupo es compatible con aislamientos de origen nosocomial, lo que confirma los hallazgos Microbiológicos. ⁽⁴⁵⁾

Los portadores nasales de *S. aureus* del personal de salud tienen gran relevancia en la transmisión del microorganismo en los hospitales; en muchos casos, se ha determinado que la colonización nasal de trabajadores de la salud y pacientes normalmente precede a la infección intrahospitalaria por esta bacteria en un estudio de Shibana A , detectó el *S. aureus* en el personal de salud en el 26,7 % de los casos. Estos resultados son coherentes con los obtenidos en otras ciudades de Colombia, con reportes de hasta un 72 % de colonización y en países de Asia con reportes entre 27 % al 37 %. Sin embargo, la prevalencia reportada en países de América Latina es relativamente más baja, con valores que oscilan entre el 12 % y 17,1 %. ⁽⁴⁶⁾

En un estudio de Colombia sobre diseminación se puede extrapolar a Perú .Escobar et al., establecen que la diseminación del SARM entre portadores asintomáticos es un factor importante para el establecimiento del SARM comunitario en su país (clon usa 300) por ende el aumento del (SARM) en hospitales del Perú ira en aumento si no se toma medidas de protección a los implicados en el sistema de salud y a los pacientes, y uso irracional del antibióticos ⁽⁴⁷⁾

1.2 Antecedentes:

En los resultados obtenidos *por* (Lima I y col) determinaron que el extracto de canela presentó un efecto inhibitor frente a *S. aureus* y *Ps. Aeruginosa*; el poder inhibitorio de este extracto fue considerable mayor sobre *S. aureus*. Esto hace suponer que su poder inhibitor es más fuerte frente a Gram positivas que frente a Gram negativas. ⁽¹⁾

Así mismo, Sánchez, (1995) trabajó con extractos etanólicos de *C. zeylanicum* donde mediante halos de inhibición se evidencio sensibilidad del *S. aureus* que fue sembrado en agar Muller Hilton ⁽²⁾

Añadimos a esto el estudio de Hili et al. Se indica que los aceites de canela tienen potencial de acción contra diversas bacterias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*) y levadura (*Torulopsis utilis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida albicans*, and *Saccharomyces cerevisiae*)⁽³⁾

También el el estudo de Burt. S, quien encontró que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* es eficaz contra bacterias Gan negativas y bacterias Gram positivas tal como *Staphylococcus aureus*. Burt. S determinó que este aceite esencial ejerce efecto inhibitorio menor sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y mayor sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. ⁽⁴⁾.

La utilización de los aceites esenciales como sustancias medicinales es una alternativa Fito terapéutica que actualmente se encuentra en constante desarrollo en diferentes partes del mundo son siendo Perú la excepción, al quedar englobada dentro de un gran auge que experimentan los productos naturales desde hace unas décadas en los países más desarrollados. Así cada vez ven la luz un mayor número de estudios y trabajos de investigación relacionados con interesantes características y propiedades de los aceites esenciales. Es por esto que, etnofarmacólogos, botánicos, microbiólogos y bioquímicos están

trabajando en la investigación de sustancias fitoquímicas para desarrollar tratamientos contra enfermedades infecciosas, basados en productos naturales. ^(5,6).

1.3 Justificación:

- Teniendo el conocimiento del *Staphylococcus aureus* meticilino resistente que es una bacteria causante de varias enfermedades que hace peligrar la vida del ser humano y para combatirla existe escasos antibióticos por eso se busca nuevas alternativas tratamientos en el campo del arte medicinal de las plantas.
- En nuestro medio como ciudad urbana y hospitales de largos años de funcionamiento y en diferentes partes del mundo la bacterias del genero sthapylococcus es un problema mayor por el desarrollo de múltiples mecanismos de resistencia contra diferentes tipos de antibióticos (b- lactamicos, etc.) limitando las alternativas de tratamiento.
- El presente estudio se realizó para conocer el efecto antibacteriano de la canela, que se distribuye y consume en la ciudad de Trujillo sobre la bacteria Gram positivas *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, abriendo así la posibilidad de utilizarlo in vivo, comparando el efecto antibacterino contra un fármaco de resistencia menor en el medio (vancomicina).
- Actualmente existe un creciente campo investigador del arte medicinal de las plantas. La industria farmacéutica se basa en los conocimientos tradicionales y modernos para la síntesis y elaboración de nuevos fármacos.

1.4 Problema:

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente?

1.5 Hipótesis:

Hipótesis nula (h0):

- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) no tiene efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Hipótesis alterna (h1):

- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) tiene efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

1.6 Objetivos:

General:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Objetivos Específicos:

- Definir el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente., mediante la técnica de kirby-Bauer.
- Definir la CMI del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.,
- Definir la CMB del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente

II MATERIAL Y MÉTODOS:

2.1 Población de estudio

Cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, conservadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2 Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Tubos de ensayo con la cepa en medio TSA y placas Petri conteniendo el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en Agar Muller -Hilton y *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, sometido a proceso de esterilización previo.

Criterios de exclusión:

- Tubos de ensayo con la cepa en medio TSA y placas petri conteniendo aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en Agar sangre Muller -Hilton y *staphylococcus aureus* meticilino, presente algún tipo de daño o rajadura en su estructura durante el proceso de esterilización.
- Tubos de ensayo con la cepa en medio TSA y placas petri conteniendo aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en Agar sangre Muller -Hilton y *staphylococcus aureus* meticilino, cuyo resultado en el proceso de esterilización

Criterios de eliminación:

- Tubos de ensayo con la cepa en medio TSA y placas petri conteniendo aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en Agar sangre Muller -Hilton y *staphylococcus aureus* meticilino, que sufra deterioro durante la conservación y los procedimientos que no permita su medición posterior.

2.3 Muestra

Unidad de análisis

La unidad de análisis lo constituirá cada halo de inhibición con diferentes concentraciones del aceite esencial de canela o el fármaco utilizado como control.

Unidad de muestreo

Unidad formadora de colonias

Fórmula para el tamaño de la muestra:

Para determinar el tamaño de muestra, se hará uso de la fórmula que nos proporciona el muestreo cuando el interés es comparar las medias de dos o más grupos de estudio para variable cuantitativa: (49)

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Siendo n= el número de repeticiones a efectuar en cada investigación

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ para $\alpha = 0.05$

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ para $\alpha = 0.05$

$S = 0.85 (X_1 - X_2)$ valor asumido por no haber estudios previos

$$n = \frac{(1.96 + 0.842)^2 2(0.85)^2 (x_1 - x_2)}{(X_1 - X_2)}$$

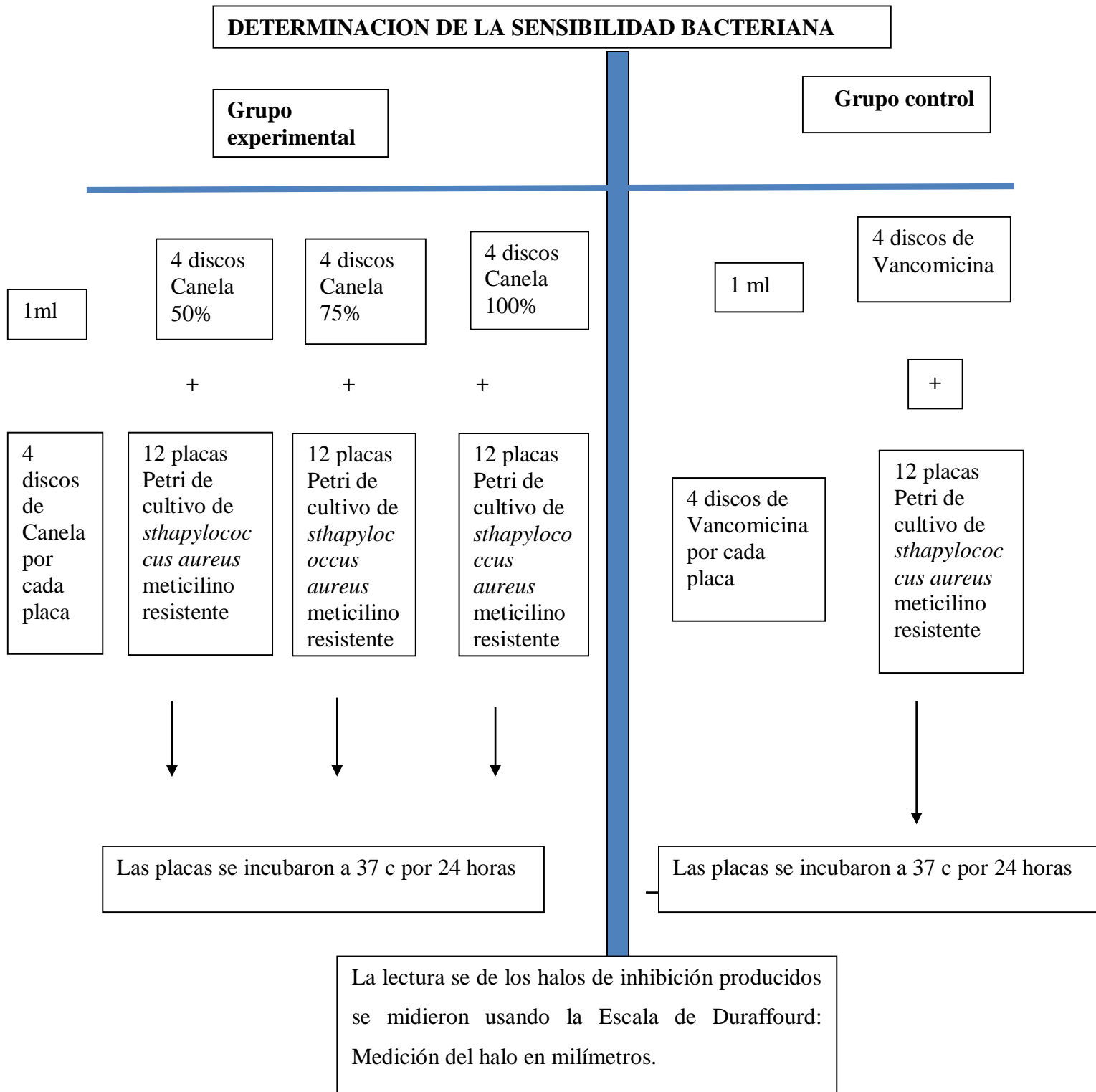
n: Por tanto cada grupo de estudio estará conformado por 12 repeticiones de .

. 2.4. Diseño de estudio

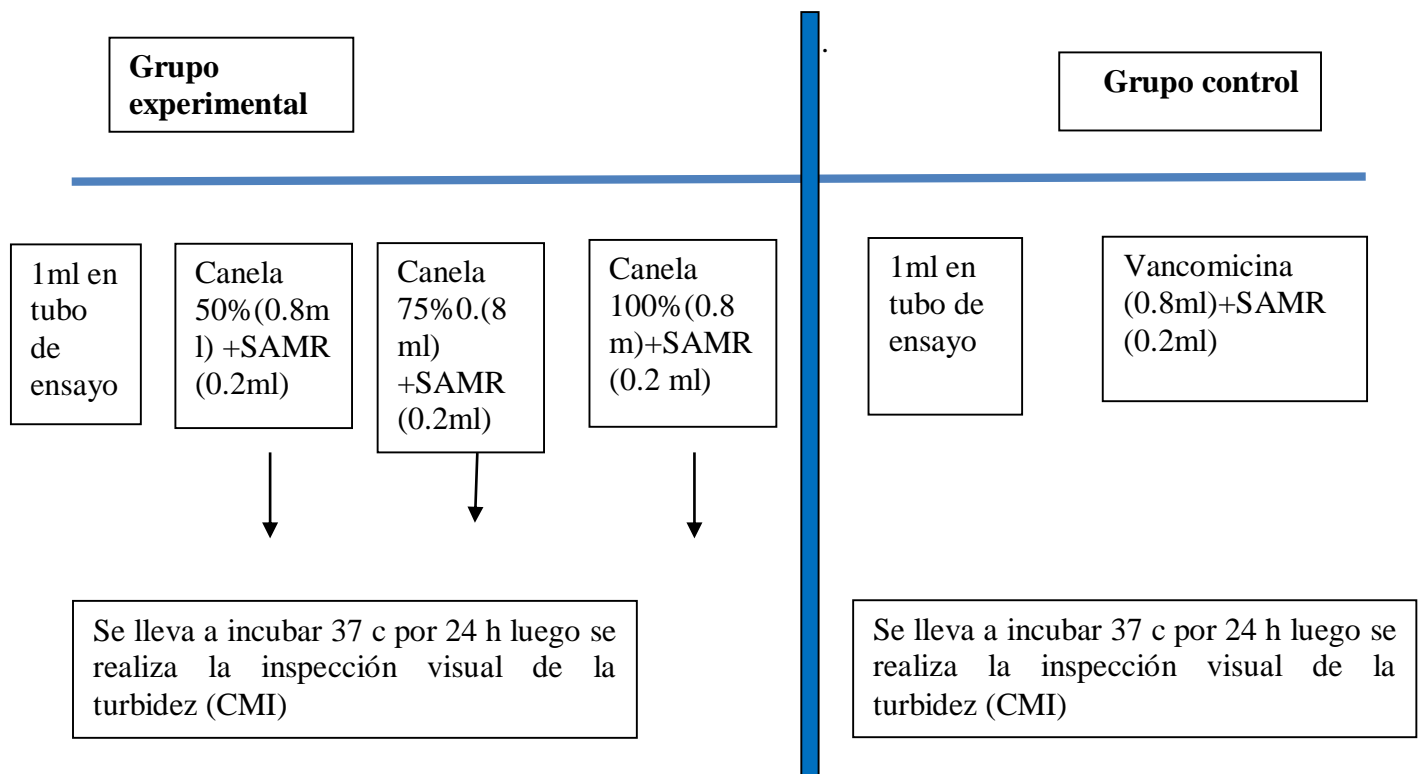
Tipo de estudio:

Según el período en que se capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio
Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Experimental

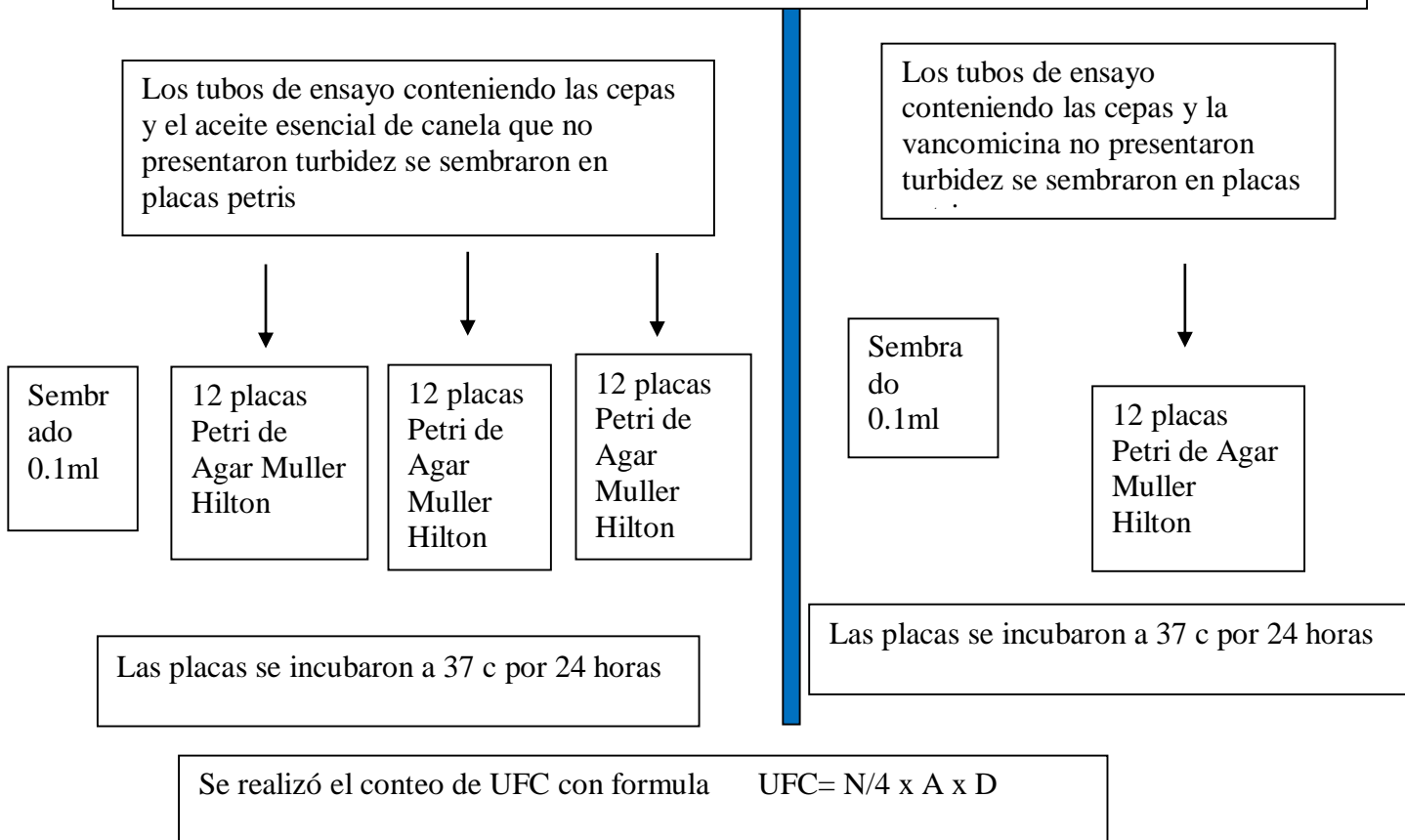
Diseño específico:



DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)



DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA (CMB)



2.5 Variables y Operacionalización

- Variables independientes
Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* al 50%,75% y 100%.
- Variables dependientes
Efecto antibacteriano in vitro sobre *staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Definiciones operacionales.- Debe ser presentado en una tabla con todos los componentes de identificación y cuantificación.

Tabla de variables

VARIABLE	TIPO	ESCALA
INDEPENDIENTE		
Aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> al 50%,75% y 100%.	cuantitativa	Nominal
DEPENDIENTE		
Efecto antibacteriano in vitro sobre <i>staphylococcus aureus</i> meticilino resistente.	cuantitativa	De razon

Tabla de Operacionalización:

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	INDICADOR	INDICE
Aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> al 50%, 75% y 100%.	Independiente cualitativa	ordinal	Concentraciones 50% 75% 100%	50% 75% 100% .
Efecto antibacteriano in vitro sobre <i>staphylococcus aureus</i> meticilino resistente .	dependiente cuantitativa	De razón	Diámetro de halos de inhibición. Unidades formadoras de colonias (UFC)	Escala de Duraffourd UFC

EFFECTO ANTIBACTERIANO:

Definición Conceptual:

Capacidad de una sustancia química sintetizada parcial o totalmente en laboratorio que es capaz de inhibir el crecimiento y/o destruir de alguna bacteria.

Cinnamomum zeylanicum:

Definición Conceptual:

.
El aceite esencial de Cinnamomun zeylanicum es extraído de un árbol perenne con una altura entre 6 y 12 metros; corteza clara, gruesa y rugosa obtenido mediante destilación por arrastre a vapor, que contiene principios activos de la planta la cual tiene la capacidad en la destrucción de las bacterias o que inhibe su crecimiento o replicación. ⁽⁵⁸⁾

Definición Operacional:

Para el presente estudio el efecto antibacteriano se determinará a través de la sensibilidad o resistencia bacteriana a través de la difusión de discos antibacterianos, en donde determinará el diámetro de inhibición obtenido a través de Escala de Duraffourd.

- Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +): para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible = ++): para un diámetro entre 15 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20 mm.

***Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE:**

Definición Conceptual:

Los SAMR son cocos Gram positivos que no mejora con la primera línea de antibióticos que normalmente cura las infecciones por estafilococos y miden cerca de 1 μm de diámetro, no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa; muchas de éstas SAMR son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosa siendo un importante patógeno nosocomial y comunitario, causante de infecciones sistémicas y locales ⁽²⁵⁾.

Definición Operacional:

Se hizo uso de una cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente conservadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo

Definición Conceptual:

Halo de Inhibición: Zona transparente alrededor del disco donde una sustancia antibacteriana es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria al cabo de 24 horas de incubación. Se utilizó como medida los diámetros de estas zonas en mm según la escala de Duraffourd.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): Se define como la menor concentración de antibacteriano capaz de inhibir el crecimiento de 10^5 bacterias por 1 mL de medio de cultivo, tras 24 h de incubación.⁽⁵⁵⁾

El Concentración Mínima Bactericida (CMB): Se define como la menor concentración del antibacteriano estudiado capaz de destruir un inóculo de 10^5 bacterias por ml de medio de cultivo, tras 24h de incubación y su eliminación es más del 99.9% de los microorganismos viables (55)

2.6 Procedimiento

Recolección de la muestra.

Se recolectaron 2000 g de corteza de *Cinnamomun zeylanicun* (peso seco), las cuales fueron recolectadas en un mercado local.

Procedimientos de Laboratorio:

OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicun* (canela)

El material recolectado fue transportado al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se eliminará las sustancias extrañas presentes en la muestra.

La obtención del aceite se realizó por el método de “destilación por arrastre de vapor de agua” (convencional) el cual permitirá un buen rendimiento.

El aceite esencial fue extraído a partir de las cortezas, previamente cortadas en partes pequeñas (1x1 cm), se colocó en un balón de fondo plano y se sometió a una corriente de vapor de agua sobrecalentada; de esta manera se arrastró la esencia que posteriormente por acción del refrigerante, fue condensada. El destilado se separó tomando en cuenta las propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, luego se utilizó una pera de separación de vidrio, se filtró, guardándose en un frasco de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C. (50,51).

DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL

La determinación del porcentaje de rendimiento del aceite esencial (%RAE), se realizó a escala de laboratorio por el método de arrastre de vapor de agua en un equipo de destilación de acero inoxidable. A partir de 2 000 kg de corteza de *Cinnamomun zeylanicun* (canela), se obtuvo un determinado volumen que fue medido con una probeta florentino. Por el método gravimétrico-volumétrico se determinó el %RAE, aplicando la siguiente fórmula ^(51,52).

$$\%RAE = \text{Vol. AE (mL)} / \text{P muestra (g)} \times 100$$

Dónde:

Vol. AE: Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

P: Muestra: Peso de la muestra a destilar en gramos.

PREPARACIÓN DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LA CORTEZA DE *Cinnamomun zeylanicun* (canela).

Las concentraciones se prepararán según el siguiente cuadro:

Volumen de aceite esencial	Volumen de Tween 80	Volumen final	Concentración (%)
1.5 mL	1.5 mL	3 mL	50
0.75mL	2.25 mL	3 mL	75
3 mL	-	3 mL	100

Luego, se colocó cada una de las concentraciones en frascos de vidrio de color ámbar estéril, para protegerlas de la luz, y fueron llevadas posteriormente a refrigeración entre 4 a 8 °C, hasta la realización del análisis microbiológico.

C) Obtención de la cepa

El *Staphylococcus aureus* meticilino resistente fue obtenido del cepario del Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Dpto. de Ciencias básicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

D) Preparación de la cepa

Una vez obtenida la cepa, se cultivó en tubo de ensayo con tapa rosca, en Agar soya tripticasa(TSA) incubo a 37°C para obtener colonias jóvenes. Luego de 24 horas, se tomó una muestra del cultivo con el asa bacteriológica embebida con caldo peptonado y se prepara una suspensión con solución salina estéril a partir de las colonias jóvenes hasta alcanzar una turbidez semejante al estándar 0.5 de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/ml), esta comparación se llevó a cabo visualmente utilizando un fondo oscuro y fuente de luz adecuada. El tubo conteniendo la bacteria fue girado entre las manos durante 30 segundos, antes de proceder al sembrado.

E) Sembrado

La siembra se realizó utilizando un hisopo estéril, el cual fue embebido en el tubo con la cepa y a una distancia de 10 cm de la llama del mechero en placas con Agar Mueller Hinton.

F) Determinación susceptibilidad bacteriana

Para la prueba de susceptibilidad, se utilizó la técnica de Kirby- Bauer (difusión de discos). Por lo que se prepararan 3 diluciones a las concentraciones de 100%, 75% y 50%, utilizando Tween 80 como diluyente. Se utilizaron discos de papel de filtro Whatman N°4, de 6 mm de diámetro, los cuales fueron embebidos en las concentraciones mencionadas del aceite de *Cinnamomum zeylanicum* "canela", luego con una aguja estéril se colocaron sobre los cultivos de *staphylococcus aureus* meticilino resistente en las placas petri previamente preparadas. Cada placa con el *staphylococcus aureus* meticilino resistente. Sembrado se colocaron los discos con las 3 concentraciones de aceite esencial y el disco del antibiótico control, que fue la Vancomicina, (medicamento de menor resistencia en el medio). Posteriormente las placas se incubaron a 37° C en la estufa por 24 horas.

La lectura se llevó a cabo a las 24 horas. Se midieron los halos de inhibición (susceptibilidad) de cada concentración y cada agente, incluyendo el área del disco de papel filtro con una regla milimetrada. Los resultados se compararon con la escalada de Escala de Durafford y se determinó la sensibilidad o resistencia.

Determinación la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Para la determinación de la CMI se realizó el método de dilución en tubos abreviado. Se prepararon cinco tubos de ensayo para cada microorganismo; tres con las concentraciones de 50% (500mg/ml), 75% (750 mg/ml) y 100% (1000mg/ml), se añadieron 0.8 mL de cada concentración, luego se realizó la inoculación de 0,2 mL de SAMR; el cuarto tubo correspondió al control con vancomicina se añadió 0.8 ml de vancomicina y 0.2 ml de SAMR ; en el quinto tubo se realizó el control sin ningún tratamiento, en estos tubos se añadió 2 ml de cultivo de SAMR. Luego los tubos fueron incubados a 37 °C por 24 horas. Tomándose lectura visual según ausencia o presencia de la turbidez.

Determinación la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

De todas los tubos que no se observaron turbidez se procedió al sembrado de 0.1ml de solución en 12 placas con agar Mueller-Hinton por cada concentración y grupo control , utilizando el asa de Driglasky para dispersar la muestra; dichas placas se colocaron en la estufa por 24 horas a 37°C y luego se observó el crecimiento del microorganismo mediante el conteo de unidades formadoras de colonias, considerándose como CMB a la menor concentración en la cual no se observaron UFC. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10cm de la llama de un mechero.

Se realizó el conteo de UFC empleando la siguiente formula. ⁽⁵⁷⁾

$$\text{UFC} = N/4 \times A \times D$$

Donde

N= número de colonias

A=área

D= dilución

Los resultados obtenidos fueron registrados en las fichas de recolección de datos para su análisis.

Estos resultados fueron comparados con el crecimiento que hubo en la placa de Agar Mueller Hinton con 0.2 ml de la dilución de la cepa en solución salina y 0.8 ml de vancomicina.

2.7 Técnica e instrumento de recolección de datos

Se realizó a través de la observación y la recolección de la información, se registró en una ficha confeccionada especialmente para el presente trabajo. **(ANEXO 5 y ANEXO 6).**

2.8 Procesamiento y Análisis estadístico:

En el presente trabajo de investigación, se utilizó las tablas estadísticas de resumen que se realizaron mediante la observación y medición de los halos inhibitorios, así como gráficos estadísticos para presentar los resultados de la investigación.

La comparación de los resultados obtenidos en la investigación se realizó mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA), Posteriormente se utilizó la prueba de Duncan, para determinar diferencias significativas entre pares de grupos considerando significativo si $p < 0.05$.

Todos los datos serán procesados de manera automatizada con el soporte del programa estadístico SPSS23.

2.9 consideraciones éticas

El presente estudio contó con la autorización de la Escuela de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego, en concordancia con las recomendaciones establecidas en la declaración de Helsinki, adoptada por la 18° Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia, Junio 1964 y modificada por la Asamblea Médica Mundial en Tokio, enero 2004.⁽⁵⁹⁾

Sin embargo en el presente trabajo se respetó el principio ético adoptado en el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú titulado: “Del trabajo de investigación”, específicamente el 6 Art. 48°, donde habla de la veracidad en la publicación de los resultados obtenidos en el estudio. Así mismo, se tuvieron en cuenta los principios de bioseguridad correspondiente a trabajos in vitro.⁶⁰

III RESULTADOS:

- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela” presentó efecto antibacteriano in vitro frente a *staphylococcus aureus* meticilino resistente.
- Se determinó la sensibilidad de *staphylococcus aureus* meticilino resistente frente al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en todas las concentraciones evaluadas siendo el de mayor promedio de halo de inhibición a la concentración al 100 %, observándose que a mayor concentración hubo mayor efecto antibacteriano (**tabla 1 y grafico 1**)
- Se determinó que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) al evaluar la susceptibilidad en las diferentes concentraciones del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente mediante los halos de inhibición según la escala de Duraffourd. (**tabla 2**)
- Según la prueba de Duncan para la Comparación del Diámetro de los Halos de Inhibición según Grupo de Tratamiento se agrupó estadísticamente en 3 grupos de tratamientos observándose el promedio de los halos para 75 % y 100 % se agruparon en un solo grupo los cuales no difieren significativamente pudiéndose usar cualquiera de estas 2 concentraciones con efectos similares (**tabla 3**).
- La determinación del CIM se evaluó Tomando lectura visual según ausencia o presencia de la turbidez. Evidenciándose falta de turbidez desde el 50 % de la concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* utilizada en este estudio (**tabla 4**).
- Con respecto a la CMB, se determinó que fue al 50% (500 mg/ml), ya que a partir de esta concentración no se presentaron UFC, sin embargo todas las concentraciones tuvieron un buen efecto inhibitorio comparado con el control bacteriano de SAMR con solución salina en donde se observó un crecimiento elevado de 10 0000000 UFC/ml. (**tabla 5**)

TABLA N° 1:

Diámetro promedio del Halo de Inhibición del aceite esencial de Cinnamomun Zeylanicum sobre Sthapylococcus aureus Metecilino Resistente, según Grupo de Tratamiento. UPAO Trujillo 2017

Tratamientos	ni	Promedio	Desv. Est.
50%	12	34.667	1.775
75%	12	39.167	6.740
100%	12	42.500	6.502
Control	12	26.000	0.000

Fuente: Datos obtenidos por el grupo investigador, año 2017.

TABLA N° 2:

Análisis de Varianza del Diámetro de los Halos de Inhibición en el control de *Sthapylococcus aureus* Meticilino Resistente. UPAO Trujillo 2017

FV	SC	gl	CM	Fc	P	FT
Tratamientos	18.403	3	6.13433	27.010	0.000	α 0.05=2.60 α 0.01=.3.8
Error	9.993	44	0.22711			
Total	28.397	47				

Fuente: Datos obtenidos por el investigador, año 2017.

$F_t(3,44)_{0.05}=2.60$

$F_t(3,44)_{0.01}=3.80$

$F_c > F_t \rightarrow$ Mayor significancia

TABLA N° 3:

Prueba de Duncan para la Comparación del Diámetro de los Halos de Inhibición según Grupo de Tratamiento. UPAO Trujillo 2017

tratamientos	ni	Grupos para alpha = 0.05		
		G1	G2	G3
Control(Vancomicina)	12	26.000		
50%	12		34.667	
75%	12			39.167
100%	12			42.500

Fuente: Datos obtenidos por el investigador, año 2017.

Gráfico N° 1:

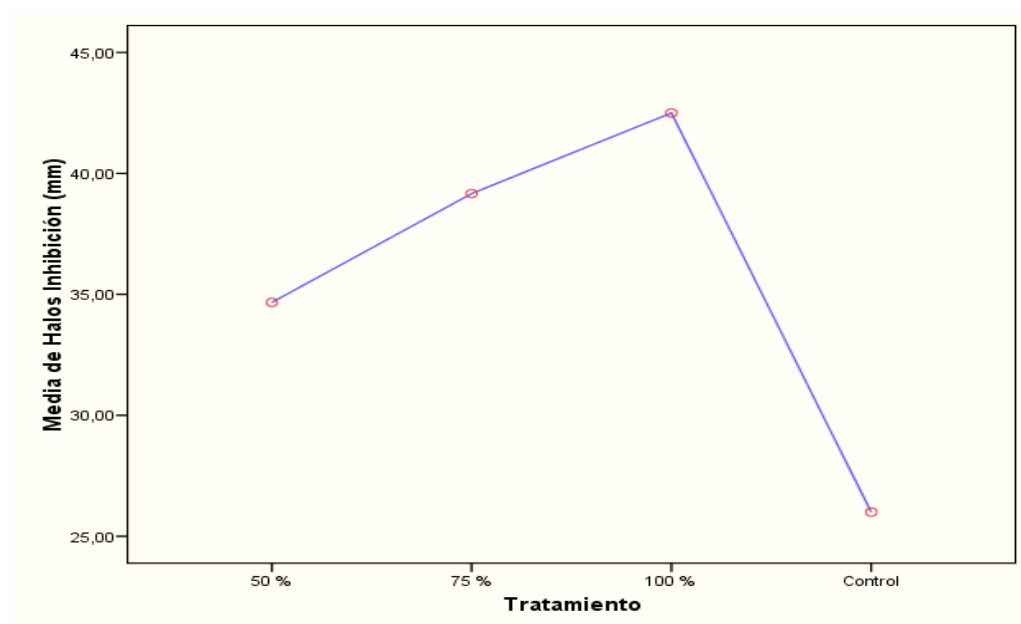


TABLA N° 4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del Aceite Esencial de *Cinnamomun zeylanicum* sobre *Sthapylococcus aureus* Meticilino Resistente

Concentración del extracto etanólico	Turbidez	Observaciones
50%	No	CMI
75%	No	
100%	No	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador, año 2017

TABLA N° 5:

Evaluación de Concentración Mínima Bactericida (CMB) del Aceite Esencial de *Cinnamomun zeylanicum* sobre *Sthapylococcus aureus* Meticilino Resistente, según Grupo de Tratamiento. UPAO Trujillo 2017

Grupo de Tratamiento	n	Promedio	Desv. Estándar
50%	12	0	0
75%	12	0	0
100%	12	0	0
Control (Vancomicina)	12	0	0
Control (Sin Tratamiento)	12	10 ⁸	0

Fuente: Datos obtenidos por el investigador, año 2017.

IV DISCUSIÓN

El reino vegetal posee muchas especies de plantas que contienen principios activos con potencial medicinal aún por descubrir. Un grupo importante son las llamadas plantas medicinales, el uso de éstas como fuentes de nuevos fármacos puede ser más económico y rentable de lo que comúnmente se cree. ⁽⁵³⁾

La canela posee múltiples propiedades con efectos biológicos y de uso terapéutico, dentro de ellas las antisépticas, analgésicas, fungicidas, antivíricas, antibióticas, antimicrobiano, espasmolítico, antioxidante, astringente, tónico del sistema simpático, estrogénico ; el poder antimicrobiano es tan fuerte que algunos fabricantes de alimentos están probando envolturas que contengan canela para invasión microbiana. ^(16,17,18)

El Perú posee una gran diversidad de plantas con uso medicinal con un escaso conocimiento científico, lo que nos da la pauta para realizar la investigación de los compuestos activos en plantas utilizadas en nuestro país y validar sus propiedades farmacológicas. De ahí que en este estudio se seleccionó una planta que pertenece a la familia Lauraceae, debido a que estas son especies ampliamente utilizadas en nuestro país en la medicina tradicional para curar diferentes enfermedades y así contribuir a su conocimiento y si es posible, en el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos que sean tanto eficaces como seguros. ⁽⁵⁴⁾

La canela posee múltiples propiedades con efectos biológicos y de uso terapéutico, dentro de ellas las antisépticas, analgésicas, fungicidas, antivíricas, antibióticas, antimicrobiano, espasmolítico, antioxidante, astringente, tónico del sistema simpático, estrogénico, carminativo; el poder antimicrobiano es tan fuerte que algunos fabricantes de alimentos están probando envolturas que contengan canela para invasión microbiana. ^(16, 17,18)

La presente investigación demostró la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cinamonum zeylanicum* frente a *SAMR* utilizando el método de Kirby-Bauer (difusión en disco) ;y determinando la CMI por observación de la turbidez en los tubos de cultivo ;también la determinación de la CMB mediante el conteo de UFC.

Se determinó que el aceite esencial de *C. zynanicum* tuvo efecto inhibitorio in vitro frente a *S.aureus* *SAMR*, al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd, para las 3 concentraciones utilizadas, además se observó que hubo una diferencia dosis dependiente debido que las comparaciones entre los grupos mostraron tener diferencia estadística significativa ($p<0,05$).

En el presente estudio, se obtuvo sensibilidad desde 50%. Es decir que la bacteria fue sensible frente a todas las concentraciones evaluadas (50%, 75%, 100%), observándose que a mayor concentración presentó mayor efecto.

La CIM se evaluó Tomando lectura visual según ausencia o presencia de la turbidez. Evidenciándose falta de turbidez desde el 50 % de la concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* utilizada en este estudio.

Con respecto a la CMB, se determinó que fue al 50% (500 mg/ml), ya que a partir de esta concentración no se presentaron UFC, sin embargo todas las concentraciones tuvieron un buen efecto inhibitorio comparado con el control bacteriano de *SAMR* con solución salina en donde se observó un crecimiento elevado de 10 0000000 UFC/ml.

Estos resultados concuerdan con los estudios realizados que citaremos mas adelante del *Cinnamomum zeylanicum* sobre su acción en cepas de organismos Gram negativos, Gram positivos, y hongos. No se ha encontrado estudios específicos de aceite esencial de canela sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente pero si hay trabajos de canela sobre *Staphylococcus aureus* sensible a metecilina.

.

En los resultados obtenidos *por* (Lima I y col) determinaron que el extracto de canela presentó un efecto inhibitor frente a *S. aureus* y *Ps. Aeruginosa*; el poder inhibitorio de este extracto fue considerable mayor sobre *S. aureus*. Esto hace suponer que su poder inhibitor es más fuerte frente a Gram positivas que frente a Gram negativas. ⁽¹⁾

Así mismo, Sánchez, (1995) trabajó con extractos etanólicos de *C. zeylanicum* donde reportó grandes halos de inhibición en los cultivos de *S. aureus* sensibles a meticilina cultivadas en Agar Muller - Hinton, cuyos resultados coinciden con el presente estudio⁽²⁾

Los resultados del presente estudio también concuerdan con la investigación realizada por **Burt. S**, quien encontró que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* es eficaz contra bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas tal como *Staphylococcus aureus*. Este autor determinó que este aceite esencial ejerce efecto inhibitorio menor sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y mayor sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*..⁽⁴⁾

El efecto de *Cinnamomum zeylanicum*(canela) posiblemente se deba a que los aceites esenciales se introducen a través de los lípidos de la membrana celular y mitocondrial de las bacterias Gram negativas sensibles, así como de las Gram positivas, alterando su estructura y haciéndolas más permeables. Como consecuencia tiene lugar una fuga de iones y de otros contenidos celulares, de forma más o menos intensa, que puede llevar a la muerte celular. ⁽⁴⁾

El hecho de que las bacterias Gram negativas sean más resistentes frente a los aceites esenciales que las Gram positivas, probablemente se explique por la composición de su membrana externa la cual posee cadenas de polisacáridos hidrofílicos que actúan como barrera frente a los aceites esenciales hidrofóbicos.⁽⁵⁶⁾

Por lo tanto, este estudio permite valorar la propiedad antibacteriana de la canela frente a un microorganismo resistente y que proviene de los hospitales de nuestro medio, donde ya se pueden encontrar resistencia antibiótica. Teniendo en cuenta la aceptación que existe por la medicina natural por parte de la población y de acuerdo a los resultados finales se podría optar por medidas de prevención y/o tratamiento que incluyan a la canela dentro de fármacos, no sin antes realizar estudios sobre modelos in vivo durante el tratamiento de las enfermedades producidas por este microorganismo.

V CONCLUSIONES:

1. El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) posee efecto antibacteriano in vitro frente al *Staphylococcus aureus* meticilino resistente mediante las pruebas de Anova y Duncan con diferencia significativa con $p < 0.05$.
2. *Staphylococcus aureus* meticilino resistente es susceptible frente a todas las concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), el efecto está en relación directa a las concentraciones utilizadas.
3. La CMI del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a SAMR fue evidente a partir de 50 % no observándose turbidez en los tubos de ensayo.
4. La CMB del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a SAMR fue efectivo a partir de 50 % no observándose crecimiento colonias bacteriana.

VI RECOMENDACIONES

- Ejecutar pruebas in vivo usando la concentración mínima encontrada en este estudio.
- Continuar con las investigaciones de productos antibacterianos presentes en aceites esenciales de diversas plantas, con la finalidad de promover la búsqueda de tratamientos a partir de productos naturales.
- Se recomienda realizar pruebas in vivo para valorar la efectividad y la toxicidad que pueden proporcionar los componentes activos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), así como la dosis terapéutica para la población humana

VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFIA:

1. Lima I., Oliveira R., Lima E., Souza E., Farias N., Navarro D. Inhibitory action of some phytochemicals on yeasts potentially causing of opportunistic infections. Rev. Bras. Cien. Farm. 2005; 41: 199-203.
2. Sánchez G. Efecto de extractos de 33 plantas sobre el crecimiento de 11 especies bacterianas causantes de enfermedades gastrointestinales. [Tesis]: F.C.B., UANL.1995:7-30.
3. Hili P, Evans C, and Veness R. G., "Antimicrobial action of essential oils: the effect. Of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil," Letters in Applied Microbiology. 1997; 24(4):269–275.
4. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int J Food Microbiol. 2001; 94: 223–253.
5. Bruneton J. Farmacognosia: Fotoquímica plantas medicinales. 2^{da} ed. Madrid: Acribias A; 2001.
6. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. España: Aiyana; 2006.
7. Ocampo R. Situación actual del comercio de plantas medicinales en América Latina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 2002; 1(4):35-40.
8. Floris I, Carta C. In vivo activity of Cinnamomum zeylanicum Nees essential oil against Bacillus larvae White. Apiculture.1990; 3(6): 57-61.
9. Dragland S., Senoo H., Wake K., Holte K., Blomhoff R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. J Nutr. 2003; 133: 1286-1290.
10. García K. Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de Cinnamomum Zeylanicum (canela) frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212. [Tesis]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego; 2012.

11. Nicolás J. Manual de plantas medicinales del altiplano de Guatemala para uso familiar. Guatemala: CHOLSAMAJ; 2013.
12. Gonzáles MV. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*). [Tesis]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010.
13. Asbahani, A. Essential oils: From extraction to encapsulation, 7^a Edition, International Journal of Pharmaceutics; 2015.
14. Lifchitz A. Plantas medicinales guía práctica de botánica universal. Buenos Aires: Kier; 2006.
15. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int J Food Microbiol. 2001; 94: 223–253
16. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. España: AIYANA; 2006.
17. García G. Alimentos que ayudan a prevenir y combatir enfermedades. EEUU: Copyright; 2012.
18. López G. Los árboles y arbustos de la península Ibérica e Islas Baleares. 2^{da} ed. Madrid: Mundi-prensa; 2006.
19. Dalirsani Z, Aghazadeh, Adibpour M, Amirchaghmaghi M, Pakfetrat A, Mosannen Mozaffari P. Mehdipour M, Taghavi Zenooz A. In vitro Comparison of Antimicrobial Activity of Ten Herbal Extracts Against *Streptococcus mutans* with Chlorhexidine. Journal of Applied Sciences 2011 Feb; 11(5): 878-882
20. Marca M. Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” FRENTE A *Cándida albicans* ATCC 6538, TACNA, 2012. Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico. Tacna: UNJBG; 2012.
21. García K. “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”. Tesis. Trujillo: UPAO; 2012.
22. Alvarado V, Moromi H. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Tesis de bachiller para Cirujano Dentista. Lima: UNMSM; 2014.

23. Osuma L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico, farmacológico. Barcelona: Gráficas Rey Universidad de Barcelona; 2005.
24. Hall V, Rocha M, Rodríguez E. Plantas medicinales. Volumen II. Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 2011.
25. Laupland KB, Church DL, Mucenski M, Sutherland LR, Davies HD. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections. J Infect Dis 2003; 187: 1452-59.
26. Castañón-Sánchez CA. Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. Evid Med Invest Salud. 2012; 5(3):79-84.)
27. Anodal M, Gardella N, Merola G, Mollerach M, Rodríguez L, Schijman M, et al. Infecciones de piel y partes blandas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente de la comunidad. Análisis molecular y genético. Rev. Dermatol. Argent. 2012; 18(3):213-220.
28. Kollef MH, Shorr A, Tabak YP, Gupta V, Liu LZ, Johannes RS. Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culturepositive pneumonia. Chest 2005; 128: 3854-62.
29. Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996-1998. Clin Infect Dis 2001; 33: 990-96.
30. Bartlett JG, Dowell SF, Mandel LA y col. Guidelines from the Infectious Diseases Society of America: practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. Clin Infect Dis 2000; 31: 347-382
31. Fridkin SK, Hageman JC, Morrisson M et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. N Engl J Med 2005; 352: 1432-1444.
32. Stryjewski ME, Chambers HF. Skin and soft-tissue infections caused by community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2008; 46(5): S368-77.
33. Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013.
34. Lall M, Sahni AK. Prevalence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. Med J Armed Forces India. 2014; 70(1):43-47.

35. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis* 2006; 42:647-56
36. David MZ, Mennella C, Mansour M, Boyle-Vavra S, Daum RS. Predominance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pathogens causing skin and soft tissue infections in a large urban jail: risk factors and recurrence rates. *J Clin Microbiol* 2008; 46(10): 3222-7.
37. De Bentzmann S, Tristan A, Etienne J, Brousse N, Vandenesch F, Lina G. *Staphylococcus aureus* isolates associated with necrotizing pneumonia bind to basement membrane type I and IV collagens and laminin. *J Infect Dis* 2004; 190: 1506-15.
38. Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Lab Invest* 2007; 87: 3-9.
39. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, *staphylococcus cassette chromosome mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1549-1555.
40. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: executive summary. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 285-292.
41. Deresinski S. Vancomycin in combination with other antibiotics for the treatment of serious methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1072-1079.
42. O'Neill AJ, Cove JH, Chopra I. Mutation frequencies for resistance to fusidic acid and rifampicin in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 647-650.
43. Hageman JC, Liedtke LA, Sunenshine RH, Strausbaugh LJ, McDonald LC, Tenover FC. Management of persistent bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a survey of infectious diseases consultants. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 42-5.
44. Ocampo AM, Vélez NA, Robledo J, Jiménez JN. Cambios a lo largo del tiempo en la distribución de los complejos de clones dominantes de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina en Medellín, Colombia. *Biomédica*. 2013; 34(1):34-40.
45. Azimian A, Najar-pirayeh S, Mirab-Samiee S, Naderi M. Occurrence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (mrsa) among clinical samples in Tehran - Iran and its correlation with polymorphism of specific accessory gene regulator (agr) groups. *Braz. J. Microbiol.* 2012; 43(2):779-785.

46. Shibabaw A, Abebe T, Mihret A. Nasal carriage rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among Dessie Referral Hospital Health Care Workers; Dessie, Northeast Ethiopia; Antimicrob Res Infec Control. 2013; 2:25.
47. Escobar-Pérez JA, Castro BE, Márquez-Ortiz RA, Gaines S, Chavarro B, Moreno J, et al. Aislamientos de *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina relacionados genéticamente con el clon USA300, origen de los aislamientos sarm de genotipo comunitario en Colombia. Biomédica 2014; 34:124-36.
48. Dawson B, Trapp G. Bioestadística Médica. 4da ed. México: Editorial Manual Moderno; 2005.
49. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de Myrciaria dubia "camu-camu" sobre Staphylococcus aureus y Candida albicans. [Tesis de bachiller en medicina]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
50. González A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, departamento de Ingeniería Química. Abril- 2004.
51. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba.2002.
52. Bandoni, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.; 2000.
53. Acosta L. "Cultive plantas medicinales". Instituto de Libro.1995:34
54. Cracker L., Simon J., Jatisatienr A., Lewinsohn E. Acta Horticulturae 629, XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants.
55. Koneman, E. Alien, S. Janda, W. Schreckenberger, P. Winn, W. Diagnóstico Microbiológico. 5ta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1999.
56. Inoue Y., Shiraishi A., Hada T., Hirose K., H Shimada. The antibacterial effects of terpene alcohols on Staphylococcus aureus and their mode of action. FEMS Microbiol Lett.2004; 237: 325–331.
57. Shibata H, Kondo K, Katsuyama R, Alkyl Gallates, Intensifiers of β -Lactam Susceptibility in Methicillin- Resistant Sthaphylococcusaureus. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(2):549-55.

58. Kloss J. Regreso al Edén: Guía práctica para obtener beneficio y salud del poder restaurador de la medicina herbaria, de los alimentos naturales y los remedios caseros. California: Copyright: 2000.
59. Mazzanti M. Declaración de Helsinki. Revista colombiana de bioética.2001; 6:1.
60. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007.

VIII ANEXOS

ANEXO N° 1

OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL ACEITE

ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum*

(CANELA)





El aceite esencial fue extraído a partir de las cortezas, previamente cortadas en partes pequeñas (1x1 cm), eliminando sustancias extrañas presentes en la muestra. siendo pesado separado en 2 partes iguales de 1000 mg .



La obtención del aceite se realizó por el método de “destilación por arrastre de vapor de agua” (convencional) el cual permite un buen rendimiento.



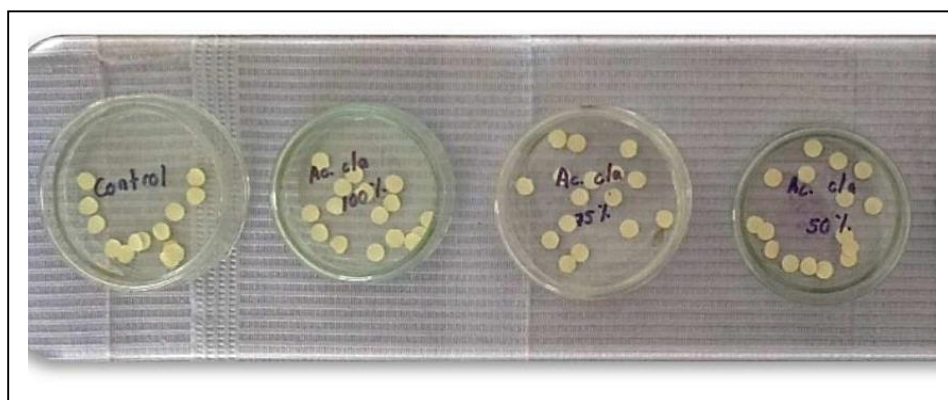
Se colocó en un balón de fondo plano y se la sometió a una corriente de vapor de agua sobrecalentada para obtener la esencial. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, utilizando una pera de separación de vidrio).



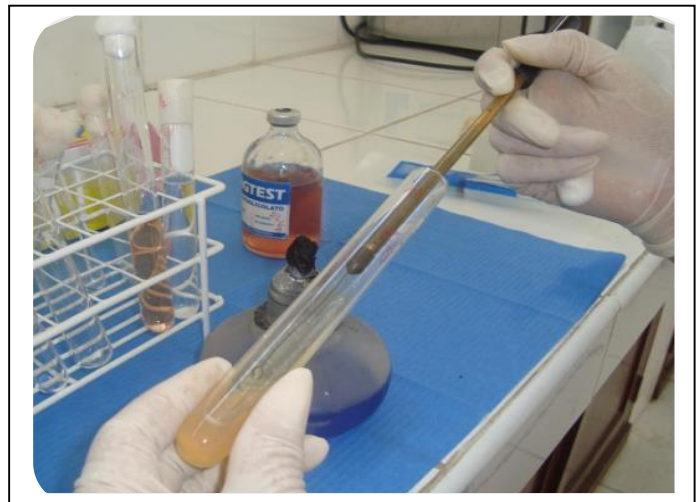
El aceite esencial purificado que se obtuvo se almacenó a 4° C en frascos herméticos estériles color ámbar.

ANEXO N° 2

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA EXPUESTA AL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (CANELA)

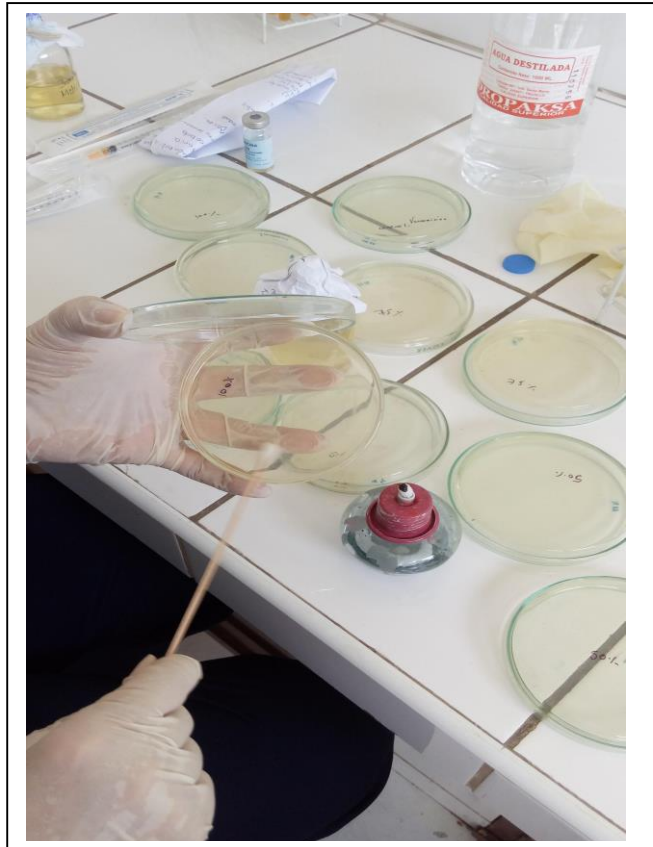


Se prepararon discos de papel de filtro estériles, los cuales fueron sumergidos dentro del aceite esencial de Cinnamomun Zeylanicum y el control con vancomicina por un periodo de una hora.

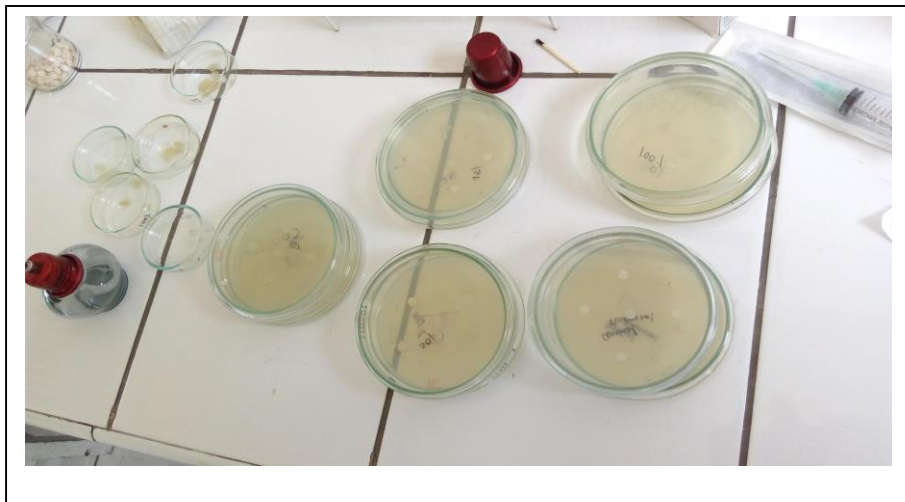
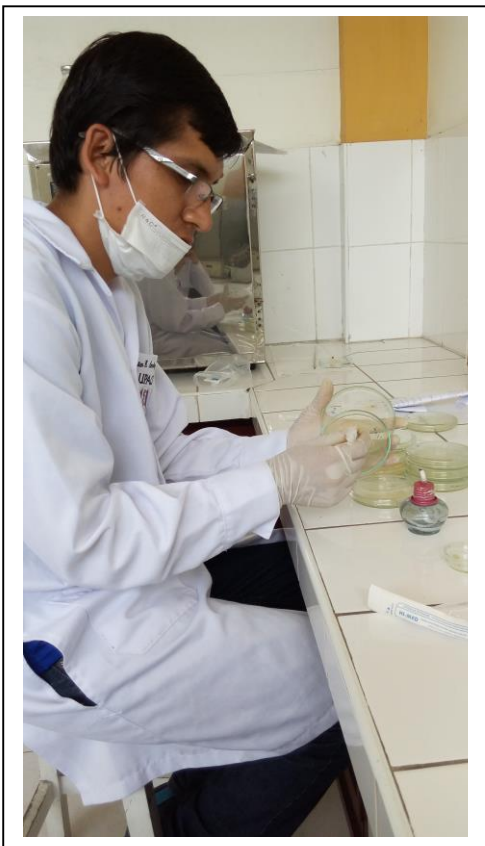


Se prepara una suspensión con solución salina estéril a partir de las colonias jóvenes hasta alcanzar una turbidez semejante al estándar 0.5 de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/ml), esta comparación se llevó a cabo visualmente.

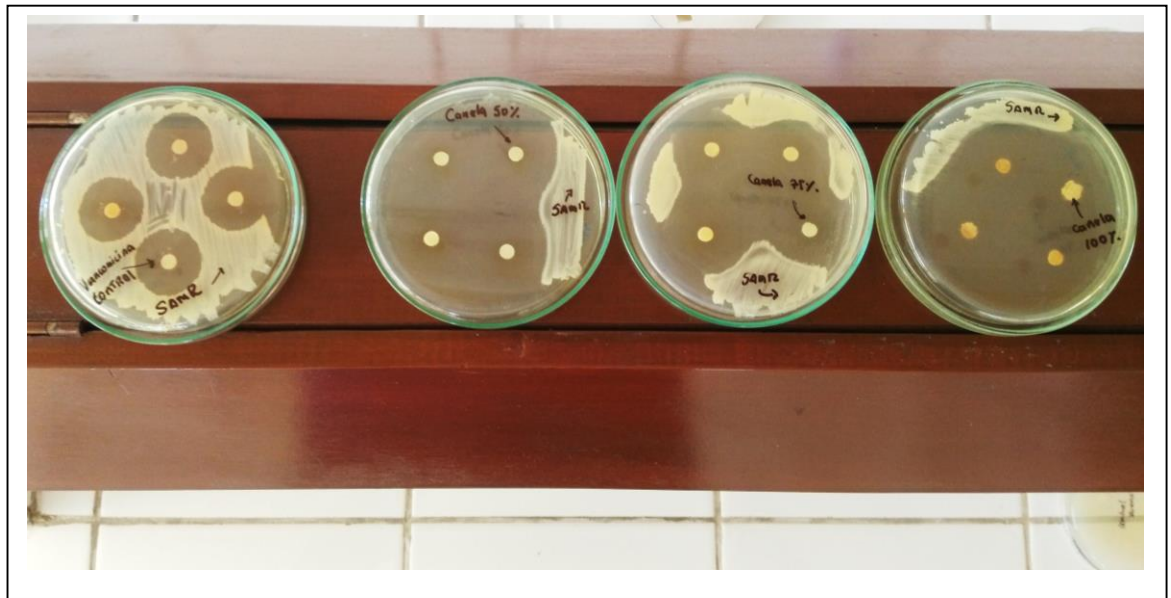




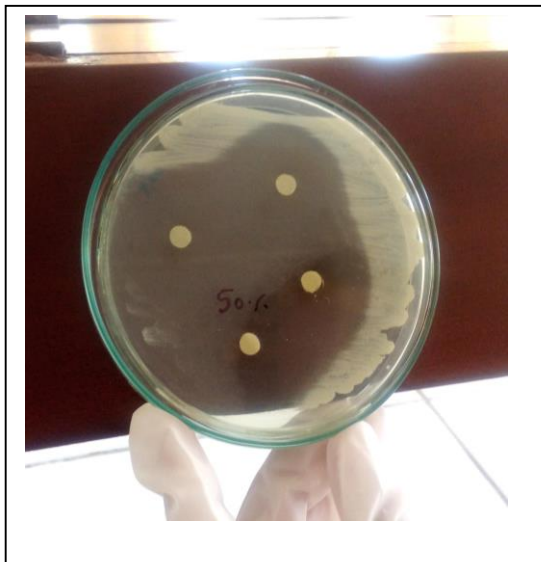
Se preparó las placas petri con medio Müller Hinton, sobre las cuales se sembró la bacteria de sthapylococcus aureus metilino resistente en camada con hisopos estériles embebido del cultivo.

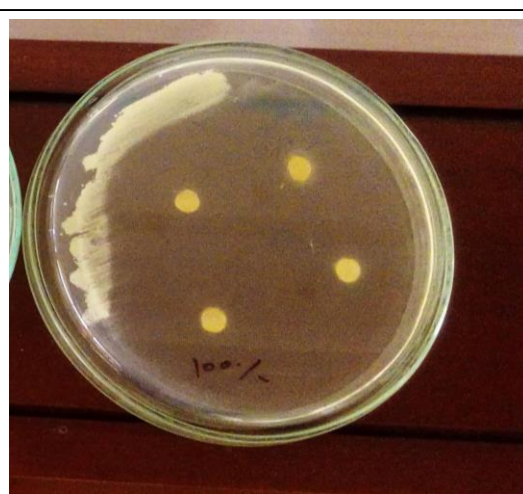
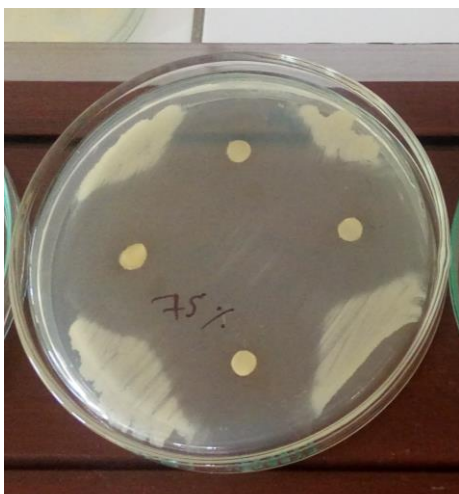


*Con una aguja estéril se colocaron los discos embebidos de cada concentración del aceite esencial de canea al 50%, 75% y 100 % más el control de discos con vancomicina; se colocaron sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente presentes en las placas Petri.*



La lectura se llevó a cabo a las 24 horas mediante la inspección visual de cada placa.





INTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS:

CUADRO DE MEDICION DE HALOS IHIBITORIOS PARA EVALUAR SUSCEPTIBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* SOBRE *Staphylococcus aureus* METECILINO RESISTENTE Y DEL CONTROL CON VANCOMICINA EN AGAR MULLER - HILTON

NUMERO DE REPETICIONES	CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Cinnamomum zeylanicum</i>			
	Halos de inhibición expresada en (mm) para evaluar SUSCEPTIBILIDAD Bacteriana			
	50%	75%	100%	Control(vancomicina)
01	34(ss)	34(ss)	36(ss)	26(ss)
02	32(ss)	36(ss)	36(ss)	26(ss)
03	36(ss)	34(ss)	38(ss)	26(ss)
04	36(ss)	34(ss)	34(ss)	26(ss)
05	34(ss)	34(ss)	50(ss)	26(ss)
06	36(ss)	34(ss)	50(ss)	26(ss)
07	36(ss)	36(ss)	50(ss)	26(ss)
08	38(ss)	36(ss)	48(ss)	26(ss)
09	34(ss)	48(ss)	40(ss)	26(ss)
10	34(ss)	50(ss)	50(ss)	26(ss)
11	32(ss)	50(ss)	38(ss)	26(ss)
12	34(ss)	44(ss)	40(ss)	26(ss)

La inspección visual se efectuó tomando el registro en milímetros de los halos de inhibición del crecimiento de sthapylococcus aureus metecilino resistente para luego usar la Escala de Duraffourd: Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición

ANEXO N° 3

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION
MINIMA INHIBITORIA (CMI) DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum*
(CANELA) SOBRE SAMR

Se prepararon cinco tubos de ensayo para cada microorganismo:

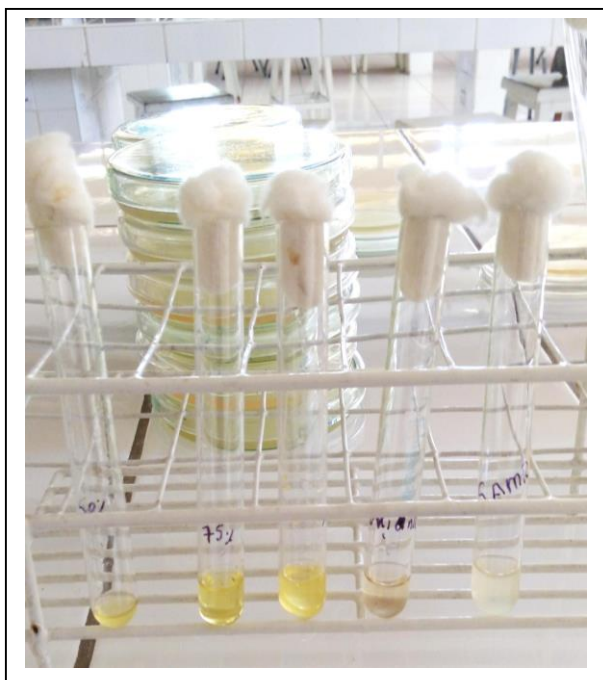
Tres con las concentraciones de 50% (500mg/ml), 75%(750 mg/ml) y 100%(1000mg/ml), se añadieron 0.8 mL de cada concentración, luego se realizó la inoculación de 0,2 mL de SAMR.

El cuarto tubo correspondió al control con vancomicina se añadió 0.8 ml de vancomicina y 0.2 ml de SAMR.

El quinto tubo se realizó el control sin ningún tratamiento, en estos tubos se añadió 2 ml de cultivo de SAMR.



Se lleva a incubar 37 c por 24 h luego se realiza la inspección visual de la turbidez (CMI)



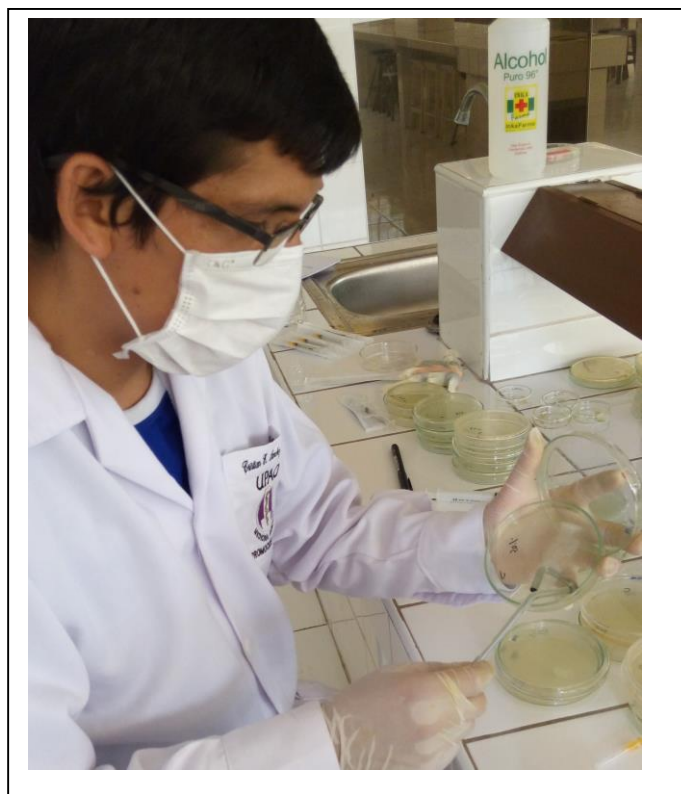
No se observó turbidez en ninguno de las concentraciones utilizadas de canela junto a SAMR.

CIM ES AL 50 %.

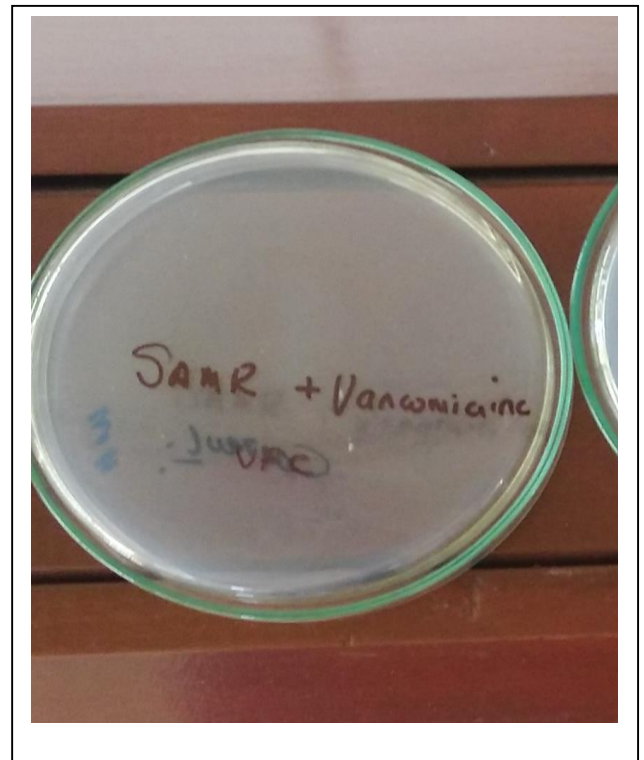
Concentración del extracto etanólico	Turbidez	Observaciones
50%	No	CMI
75%	No	
100%	No	

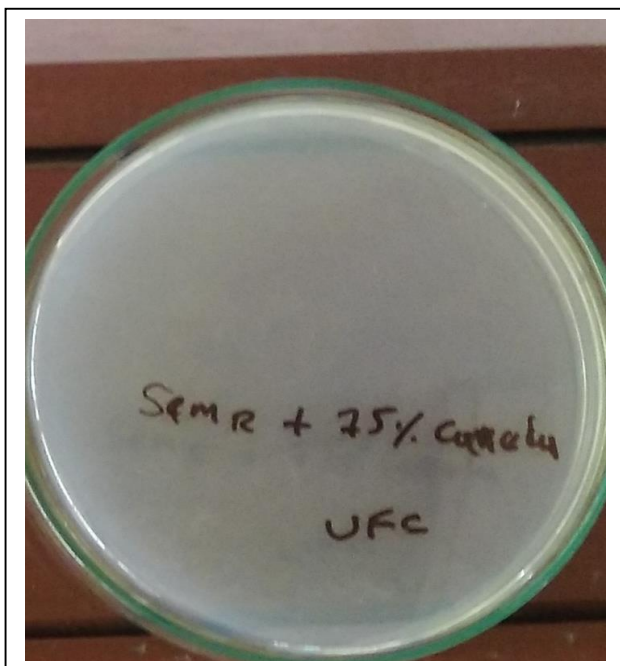
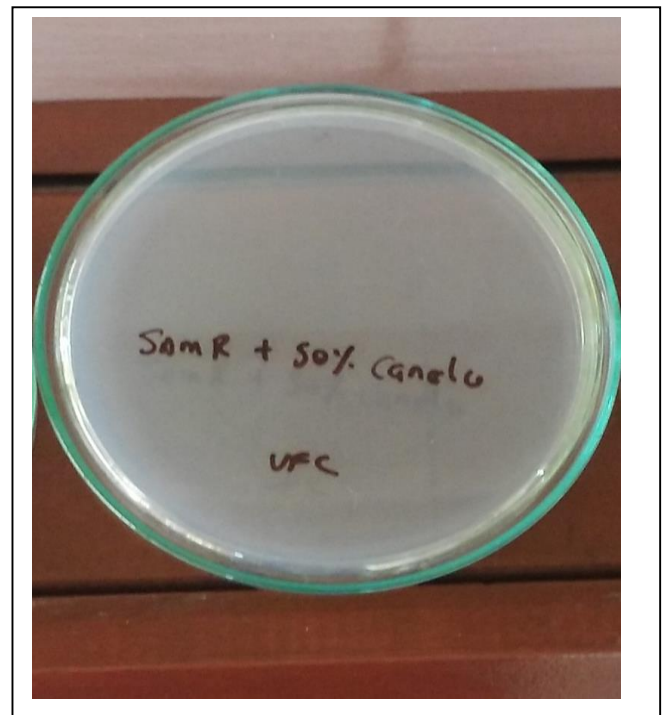
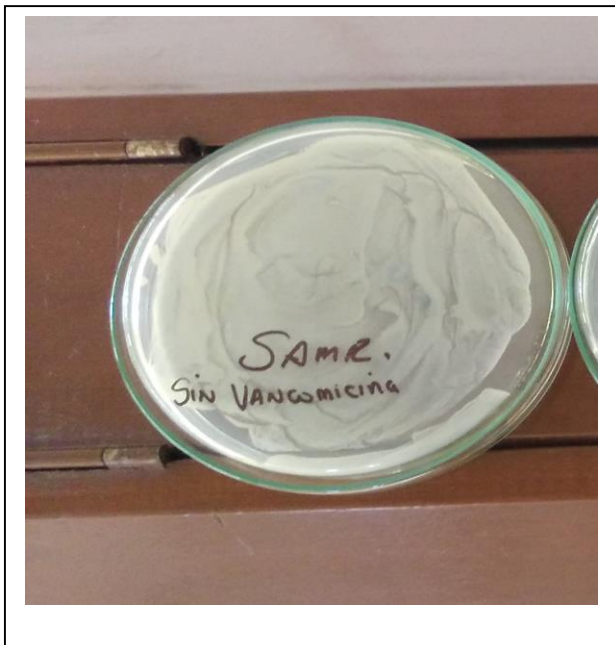
ANEXO N° 4

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA (CMB) DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (CANELA) SOBRE SAMR



Posteriormente para la determinación de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de cada tubo se sembró 0,1 ml en placas con agar Mueller Hinton preparadas previamente, utilizando el asa de Driglasky para dispersar la muestra. Y se puso a temperatura a 37 grados centígrados por 24 horas para observar resultados.





Se determinó la ausencia de las unidades formadoras de colonias en cada placa.

ANEXO 5

INTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS:

CUADRO DE MEDICION DE HALOS IHIBITORIOS PARA EVALUAR SUSCEPTIBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* SOBRE *Sthapylococcus aureus* METECILINO RESISTENTE Y DEL CONTROL CON VANCOMICINA EN AGAR MULLER - HILTON

NUMERO DE REPETICIONES	CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Halos de inhibición expresada en (mm) para evaluar SUSCEPTIBILIDAD Bacteriana			
	50%	75%	100%	Control(vancomicina)
01	34(ss)	34(ss)	36(ss)	26(ss)
02	32(ss)	36(ss)	36(ss)	26(ss)
03	36(ss)	34(ss)	38(ss)	26(ss)
04	36(ss)	34(ss)	34(ss)	26 (ss)
05	34(ss)	34(ss)	50(ss)	26(ss)
06	36(ss)	34(ss)	50(ss)	26(ss)
07	36(ss)	36(ss)	50(ss)	26(ss)
08	38(ss)	36(ss)	48(ss)	26(ss)
09	34(ss)	48(ss)	40(ss)	26(ss)
10	34(ss)	50(ss)	50(ss)	26(ss)
11	32(ss)	50(ss)	38(ss)	26(ss)
12	34(ss)	44(ss)	40(ss)	26(ss)

- (N) Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm.
- (SL) Sensibilidad límite (sensible = +): para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- (M) Medio (muy sensible = ++): para un diámetro entre 15 y 20 mm.
- (SS)Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20 mm.

ANEXO 6

CUADRO CONTEO DE UNIDAD FORMADORAS DE COLONIAS PARA EVALUAR CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* SOBRE *Staphylococcus aureus* METECILINO RESISTENTE EN AGAR MULLER - HILTON

NUMERO DE REPETICIONES	CONTEO DE UNIDAD FORMADORAS DE COLONIAS PARA EVALUAR CMB				
	50% UFC	75% UFC	100% UFC	SAMR con Vancomicina	SAMR sin Vancomicina
01	0	0	0	0	10 ⁸
02	0	0	0	0	10 ⁸
03	0	0	0	0	10 ⁸
04	0	0	0	0	10 ⁸
05	0	0	0	0	10 ⁸
06	0	0	0	0	10 ⁸
07	0	0	0	0	10 ⁸
08	0	0	0	0	10 ⁸
09	0	0	0	0	10 ⁸
10	0	0	0	0	10 ⁸
11	0	0	0	0	10 ⁸
12	0	0	0	0	10 ⁸

CMB se presenta al 50 % del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.

